

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-070299

(43)Date of publication of application : 18.03.1997

(51)Int.Cl.

C12Q 1/52

C12Q 1/26

C12Q 1/28

C12Q 1/30

C12Q 1/32

C12Q 1/34

C12Q 1/40

C12Q 1/42

C12Q 1/44

C12Q 1/60

C12Q 1/62

(21)Application number : 07-228240

(71)Applicant : A & T:KK

(22)Date of filing : 05.09.1995

(72)Inventor : UNE HIROSHI

(54) LIQUID CONCENTRATED BIOCHEMICAL REAGENT

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain the subject reagent which is diluted in use, reacted with an enzyme, etc., in a specimen to form a target measuring substance, has a long preservation period and is capable of measuring a large amount of specimens, by concentrating a first and a second reagents in a state in which the components of both the reagents maintain constituent ratios, respectively.

SOLUTION: In a biochemical reagent which comprises a first and a second reagents, is reacted with a specific enzyme or substance in serum or urine as a specimen to form a fixed measuring object, the first and the second reagents are adjusted to a concentrated state in which both the reagents maintain the constituent ratios of constituent components constituting the reagents. Just before use, the biochemical reagent is diluted with diluting water and adjusted for use to give the objective liquid concentrated biochemical reagent which has a long preservation period, is capable of measuring a large amount of specimens with a small volume and is useful for measuring AST (aspartate aminotransferase), ALT (alanine aminotransferase), LDH (lactate

dehydrogenase), ALP (alkaline phosphatase), etc.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 10.04.1997

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 2862817

[Date of registration] 11.12.1998

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-70299

(43)公開日 平成9年(1997)3月18日

(51)Int.Cl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 Q	1/52	7823-4B	C 1 2 Q	1/52
	1/26	7823-4B		1/26
	1/28	7823-4B		1/28
	1/30	7823-4B		1/30
	1/32	7823-4B		1/32

審査請求 未請求 請求項の数9 O L (全 10 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平7-228240

(22)出願日 平成7年(1995)9月5日

(71)出願人 591258484

株式会社エイアンドティー
東京都日野市日野320番地の11

(72)発明者 宇根 浩

東京都日野市日野320番地の11 株式会社
エイアンドティー内

(74)代理人 弁理士 酒井 宏明

(54)【発明の名称】 液状濃縮生化学試薬

(57)【要約】

【課題】 保存可能期間が長く、かつ、小容量で大量の検体の測定が可能な液状の生化学試薬を提供する。

【解決手段】 第1反応試薬と第2反応試薬からなり、検体である血清中または尿中の特定の酵素または物質と反応して所定の測定対象物を生成する生化学試薬において、前記第1反応試薬および第2反応試薬が、それぞれの試薬を構成する構成成分の構成比率を保った濃縮状態に調整された液状試薬であり、かつ、使用直前に希釈水で所定濃度に希釈して使用される。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 第1反応試薬と第2反応試薬からなり、検体である血清中または尿中の特定の酵素または物質と反応して所定の測定対象物を生成する生化学試薬において、前記第1反応試薬および第2反応試薬が、それぞれの試薬を構成する構成成分の構成比率を保った濃縮状態に調整された液状試薬であり、かつ、使用直前に希釈水で所定濃度に希釈して使用されることを特徴とする液状濃縮生化学試薬。

【請求項2】 前記第1反応試薬が、トリス、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、L-アスパラギン酸、NADH（還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド）、LDH（乳酸脱水素酵素）、MDH（リンゴ酸脱水素酵素）、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、前記第2反応試薬が、トリス、アジ化ナトリウム、塩酸、L-アスパラギン酸、 α -ケトグルタル酸、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、血清中のAST（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）を測定する試薬であることを特徴とする請求項1記載の液状濃縮生化学試薬。

【請求項3】 前記第1反応試薬が、トリス、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、L-アラニン、NADH（還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド）、LDH（乳酸脱水素酵素）、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、前記第2反応試薬が、トリス、安息香酸ナトリウム、塩酸、L-アラニン、 α -ケトグルタル酸、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、血清中のALT（アラニンアミノトランスフェラーゼ）を測定する試薬であることを特徴とする請求項1記載の液状濃縮生化学試薬。

【請求項4】 前記第1反応試薬が、トリス、アジ化ナトリウム、塩酸、NADH（還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド）、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、前記第2反応試薬が、トリス、MES（2-（N-モノホリノ）エタンスルホン酸）、アジ化ナトリウム、塩酸、ビルビン酸リチウム、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、血清中のLDH（乳酸脱水素酵素）を測定する試薬であることを特徴とする請求項1記載の液状濃縮生化学試薬。

【請求項5】 前記第1反応試薬が、ジエタノールアミン、アジ化ナトリウム、塩酸、塩化マグネシウムから成り、前記第2反応試薬が、p-ニトロフェニルフォスフェート、水酸化ナトリウムから成り、血清中のALP（アルカリフォスファターゼ）を測定する試薬であることを特徴とする請求項1記載の液状濃縮生化学試薬。

【請求項6】 前記第1反応試薬が、リン酸-カリウム、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、N-エチル-N-（2ヒドロキシ-3-スルホプロピル）-m-トリルジン、アスコルビン酸酸化酵素、ポリオキシエチ-

レンアルキルエーテルから成り、前記第2反応試薬が、リン酸-カリウム、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、4-アミノアンチピリン、ベルオキシダーゼ、ウリカーゼから成り、血清中および尿中のUA（尿酸）を測定する試薬であることを特徴とする請求項1記載の液状濃縮生化学試薬。

【請求項7】 前記第1反応試薬が、TAPS（N-トリリス（ヒドロキシメチル）メチル-3-アミノプロパンスルホン酸）、水酸化ナトリウム、塩化ナトリウム、3-ヒドロキシ-2, 4, 6-トリヨード安息香酸、クレアチナーゼ、ザルコシンオキシダーゼ、カタラーゼ、アスコルビン酸酸化酵素、ポリオキシエチレンアルキルエーテルから成り、前記第2反応試薬が、TAPS（N-トリリス（ヒドロキシメチル）メチル-3-アミノプロパンスルホン酸）、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、4-アミノアンチピリン、クレアチニナーゼ、ベルオキシダーゼ、ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテルから成り、血清中および尿中のCRE（クレアチニン）を測定する試薬であることを特徴とする請求項1記載の液状濃縮生化学試薬。

【請求項8】 前記第1反応試薬が、リン酸-カリウム、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、N-エチル-N-（2ヒドロキシ-3-スルホプロピル）-m-アニシジン、アスコルビン酸酸化酵素、ポリオキシエチレンアルキルエーテルから成り、前記第2反応試薬が、リン酸-カリウム、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、塩化マグネシウム、4-アミノアンチピリン、コレステロールエステラーゼ、コレステロールオキシダーゼ、ベルオキシダーゼから成り、血清中のT-CHO（総コレステロール）を測定する試薬であることを特徴とする請求項1記載の液状濃縮生化学試薬。

【請求項9】 前記第1反応試薬が、PIPES（ビペラジン-N, N'-ビス（2-エタンスルホン酸））、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、酢酸カルシウム、塩化ナトリウム、 α -グルコシダーゼ、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム、ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテルから成り、前記第2反応試薬が、PIPES（ビペラジン-N, N'-ビス（2-エタンスルホン酸））、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、塩酸、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム、p-ニトロフェニル- β -ガラクトシル- α -マルトペンタオシドから成り、血清中および尿中のAMY（アミラーゼ）を測定する試薬であることを特徴とする請求項1記載の液状濃縮生化学試薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、検体である血清中または尿中の特定の酵素または物質と反応して所定の測定対象物を生成する生化学試薬に関し、特に、使用直前に希釈水で所定濃度に希釈して使用する液状濃縮生化学

試薬に関する。

【0002】

【従来の技術】従来、検体である血清中または尿中の特定の酵素または物質と反応して所定の測定対象物を生成する生化学試薬として、所定容量の水で溶解させて使用する凍結乾燥試薬がある。ところが、この凍結乾燥試薬は、臨床検査の現場において使用時に毎回調整する必要があるため、試薬の調整が煩わしいという不都合があった。このため、これを解決するものとして、あらかじめ使用可能な状態に調整された液状の生化学試薬が広く用いられるようになっている。

【0003】一方、従来の臨床検査の分野においては、あらかじめ液状の生化学試薬を載置することにより、自動的に検体の臨床検査を行う自動分析装置が開発されている。また、装置の小型化・高性能化に伴って、検査項目の多項目化や、検体の大量測定が可能となっている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、上記従来の液状の生化学試薬によれば、臨床検査の現場における試薬調整の煩わしさを解決することができるものの、試薬の安定性が低いため、保存可能期間が半年～1年と短いという問題点があった。

【0005】また、自動分析装置における検査項目の多項目化に伴って、一台の自動分析装置に同時に多数の生化学試薬を設置する傾向にある。したがって、これに対応するために液状の生化学試薬の小容量ボトル化の要求が高いものの、小容量ボトルにすると検体の大量測定に対応できないという不具合が発生するため、小容量で大量の検体の測定が可能な生化学試薬の開発が望まれている。

【0006】特に、生化学試薬は、前処理に使用する第1反応試薬と発色等の主反応に使用する第2反応試薬との2つの反応試薬で構成されるため、これらのボトルのサイズ（容量）が自動分析装置の装置サイズに与える影響は無視できない。

【0007】本発明は上記に鑑みてなされたものであって、保存可能期間が長く、かつ、小容量で大量の検体の測定が可能な液状の生化学試薬を提供することを目的とする。

【0008】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成するために、請求項1に係る液状濃縮生化学試薬は、第1反応試薬と第2反応試薬からなり、検体である血清中または尿中の特定の酵素または物質と反応して所定の測定対象物を生成する生化学試薬において、前記第1反応試薬および第2反応試薬が、それぞれの試薬を構成する構成成分の構成比率を保った濃縮状態に調整された液状試薬であり、かつ、使用直前に希釈水で所定濃度に希釈して使用されるものである。

【0009】また、請求項2に係る液状濃縮生化学試薬

は、前記第1反応試薬が、トリス、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、L-アスパラギン酸、NADH（還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド）、LDH（乳酸脱水素酵素）、MDH（リンゴ酸脱水素酵素）、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、前記第2反応試薬が、トリス、アジ化ナトリウム、塩酸、L-アスパラギン酸、 α -ケトグルタル酸、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、血清中のAST（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）を測定する試薬であるものである。

【0010】また、請求項3に係る液状濃縮生化学試薬は、前記第1反応試薬が、トリス、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、L-アラニン、NADH（還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド）、LDH（乳酸脱水素酵素）、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、前記第2反応試薬が、トリス、安息香酸ナトリウム、塩酸、L-アラニン、 α -ケトグルタル酸、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、血清中のALT（アラニンアミノトランスフェラーゼ）を測定する試薬であるものである。

【0011】また、請求項4に係る液状濃縮生化学試薬は、前記第1反応試薬が、トリス、アジ化ナトリウム、塩酸、NADH（還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド）、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、前記第2反応試薬が、トリス、MES（2-（N-モノホリノ）エタンスルホン酸）、アジ化ナトリウム、塩酸、ビルビン酸リチウム、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、血清中のLDH（乳酸脱水素酵素）を測定する試薬であるものである。

【0012】また、請求項5に係る液状濃縮生化学試薬は、前記第1反応試薬が、ジエタノールアミン、アジ化ナトリウム、塩酸、塩化マグネシウムから成り、前記第2反応試薬が、p-ニトロフェニルフォスフェート、水酸化ナトリウムから成り、血清中のALP（アルカリフォスファターゼ）を測定する試薬であるものである。

【0013】また、請求項6に係る液状濃縮生化学試薬は、前記第1反応試薬が、リン酸-カリウム、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、N-エチル-N-（2-ヒドロキシ-3-スルフォプロピル）-m-トールイジン、アスコルビン酸酸化酵素、ポリオキシエチレンアルキルエーテルから成り、前記第2反応試薬が、リン酸-カリウム、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、4-アミノアンチピリン、ペルオキシダーゼ、ウリカーゼから成り、血清中および尿中のUA（尿酸）を測定する試薬であるものである。

【0014】また、請求項7に係る液状濃縮生化学試薬は、前記第1反応試薬が、TAPS（N-トリス（ヒドロキシメチル）メチルー3-アミノプロパンスルホン酸）、水酸化ナトリウム、塩化ナトリウム、3-ヒドロ

キシ-2, 4, 6-トリヨード安息香酸, クレアチナーゼ, ギャルコシノキシダーゼ, カタラーゼ, アスコルビン酸酸化酵素, ポリオキシエチレンアルキルエーテルから成り, 前記第2反応試薬が, TAPS (N-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-3-アミノプロパンスルホン酸), アジ化ナトリウム, 水酸化ナトリウム, 4-アミノアンチピリン, クレアチナーゼ, ペルオキシダーゼ, ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテルから成り, 血清中および尿中のCRE (クレアチニン) を測定する試薬であるものである。

【0015】また, 請求項8に係る液状濃縮生化学試薬は, 前記第1反応試薬が, リン酸-カリウム, アジ化ナトリウム, 水酸化ナトリウム, N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-スルフォプロピル)-m-アニシジン, アスコルビン酸酸化酵素, ポリオキシエチレンアルキルエーテルから成り, 前記第2反応試薬が, リン酸-カリウム, アジ化ナトリウム, 水酸化ナトリウム, 塩化マグネシウム, 4-アミノアンチピリン, コレステロールエステラーゼ, コレステロールオキシダーゼ, ペルオキシダーゼから成り, 血清中のT-CHO (総コレステロール) を測定する試薬であるものである。

【0016】また, 請求項9に係る液状濃縮生化学試薬は, 前記第1反応試薬が, PIPES (ピペラジン-N, N'-ビス(2-エタンスルホン酸)), アジ化ナトリウム, 水酸化ナトリウム, 酢酸カルシウム, 塩化ナトリウム, α -グルコシダーゼ, エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム, ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテルから成り, 前記第2反応試薬が, PIPES (ピペラジン-N, N'-ビス(2-エタンスルホン酸)), アジ化ナトリウム, 水酸化ナトリウム, 塩酸, エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム, p-ニトロフェニル- β -ガラクトシル- α -マルトペンタオシドから成り, 血清中および尿中のAMY (アミラーゼ) を測定する試薬であるものである。

【0017】

【発明の実施の形態】以下, 本発明の液状濃縮生化学試薬の一実施例について,

①本発明の液状濃縮生化学試薬の概要

②AST (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ) 用液状濃縮生化学試薬

③ALT (アラニンアミノトランスフェラーゼ) 用液状濃縮生化学試薬

④LDH (乳酸脱水素酵素) 用液状濃縮生化学試薬

⑤ALP (アルカリフォスファターゼ) 用液状濃縮生化学試薬

⑥UA (尿酸) 用液状濃縮生化学試薬

⑦CRE (クレアチニン) 用液状濃縮生化学試薬

⑧T-CHO (総コレステロール) 用液状濃縮生化学試薬

⑨AMY (アミラーゼ) 用液状濃縮生化学試薬

の順で図面を参照して詳細に説明する。

【0018】①本発明の液状濃縮生化学試薬の概要

本発明の液状濃縮生化学試薬は, 目的とする測定対象物を得るために, 検体である血清または尿に前処理を行うための第1反応試薬と, 第1反応試薬による前処理で得られた物質と反応して所定の測定対象物を生成する第2反応試薬からなる。

【0019】また, これら第1反応試薬および第2反応試薬は, それぞれの試薬を構成する構成成分の構成比率を保った濃縮状態に調整された液状試薬 (液状の濃縮試薬) である。換言すれば, 本発明の液状濃縮生化学試薬は, 生化学試薬の構成成分の全てを高濃度で調整した試薬である。特に構成成分中に反応に関与する酵素を含む場合, 酵素も高濃度に溶解して, 試薬を調整する。試薬の構成成分は, 緩衝成分, 基質, 色素, 酵素等からなる。

【0020】本発明者は, 液状の生化学試薬の安定性を高めて保存可能期間を長くする方法として, 鋭意研究を重ねた結果, 試薬を構成する構成成分を全て濃縮 (高濃度) 状態で調整し, 使用直前に所定濃度に希釈して使用する液状濃縮生化学試薬を作成した。

【0021】この液状濃縮生化学試薬は, 試薬を構成する構成成分を全て濃縮状態で調整したため, 試薬の安定性が高まり, 従来の液状の生化学試薬と比較して, 1.5~2倍に保存可能期間が向上した。また, 使用直前に所定濃度に希釈するだけで使用できるため, 試薬の調整作業が不要であり, 作業性が向上する。

【0022】また, 液状濃縮生化学試薬は濃縮状態であるため, 小容量で大量の検体の測定が可能である。換言すれば, 小容量ボトルで大量の検体の測定が行える。

【0023】また, 小容量ボトルで大量の検体の測定が行えるので, 自動分析装置の試薬ボトルの交換回数が減り, 臨床検査の現場での省力化を図ることができる。

【0024】さらに, 液状濃縮生化学試薬を小容量ボトルとすることができるので, 従来の液状の生化学試薬と比較して輸送コストの低減を図ることができる。また, 従来の凍結乾燥試薬と比較すると冷蔵スペース等の削減が可能であり, コストの低減を図ることができる。

【0025】②AST (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ) 用液状濃縮生化学試薬

血清中のASTを測定する場合の液状濃縮生化学試薬の具体例について, 図1のAST用液状濃縮生化学試薬の試薬組成 (構成成分) を参照して説明する。

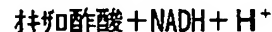
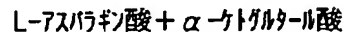
【0026】第1反応試薬は, トリス, アジ化ナトリウム, 水酸化ナトリウム, L-アスパラギン酸, NADH (還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド), LDH (乳酸脱水素酵素), MDH (リンゴ酸脱水素酵素), ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り, それぞれ図1に示す容量 (従来の液状の生化学試薬に対して2倍の高濃度に濃縮した状態) で混合し

て、調整したものである。

【0027】また、第2反応試薬は、トリス、アジ化ナトリウム、塩酸、L-アスパラギン酸、 α -ケトグルタル酸、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、それぞれ図1に示す容量（従来の液状の生化学試薬に対して2倍の高濃度に濃縮した状態）で混合して、調整したものである。

【0028】次に、このように調整したAST用液状濃縮生化学試薬（第1反応試薬および第2反応試薬）を用いて、血清中のASTを測定する方法について説明する。なお、ASTの測定は、自動分析装置を使用したUV-Rate法で測定する。

【0029】まず、あらかじめAST用液状濃縮生化学試薬を、自動希釈機能を搭載した自動分析装置にセットしておく。自動分析装置でASTの項目を指定すると、自動分析装置が第1反応試薬および第2反応試薬をそれ

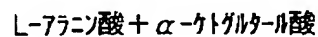


【0032】③ALT（アラニンアミノトランスフェラーゼ）用液状濃縮生化学試薬

血清中のALTを測定する場合の液状濃縮生化学試薬の具体例について、図2のALT用液状濃縮生化学試薬の試薬組成（構成成分）を参照して説明する。

【0033】第1反応試薬は、トリス、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、L-アラニン、NADH（還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド）、LDH（乳酸脱水素酵素）、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、それぞれ図2に示す容量（従来の液状の生化学試薬に対して2倍の高濃度に濃縮した状態）で混合して、調整したものである。

【0034】また、第2反応試薬は、トリス、安息香酸ナトリウム、塩酸、L-アラニン、 α -ケトグルタル酸、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、それぞれ図2に示す容量（従来の液状の生化学試



【0038】④LDH（乳酸脱水素酵素）用液状濃縮生化学試薬

血清中のLDHを測定する場合の液状濃縮生化学試薬の具体例について、図3のLDH用液状濃縮生化学試薬の試薬組成（構成成分）を参照して説明する。

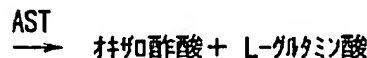
【0039】第1反応試薬は、トリス、アジ化ナトリウム、塩酸、NADH（還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド）、ポリオキシエチレンソルビタンモノラ

それ所定の容量の希釈水で希釈し、図1に示すように希釈後の濃度に調整する。このように希釈した後の第1反応試薬および第2反応試薬を検体に分注して攪拌することにより、生化学反応を行わせ、AST測定時の測定対象物を生成する。なお、ここでは、後述するように測定対象物がNADHであるため、反応による測定対象物の減少速度を測定することとなる。

【0030】具体的には、化1に示すように、血清中のASTが、L-アスパラギン酸および α -ケトグルタル酸を基質として、オキザロ酢酸とL-グルタミン酸を生成する。このオキザロ酢酸はMDHの作用によりリンゴ酸に変化し、同時にNADHは NAD^+ に変化する。NADHは340nmに吸収極大をもつため、この吸光度の減少速度を測定してAST活性値を求める。

【0031】

【化1】



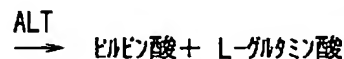
薬に対して2倍の高濃度に濃縮した状態）で混合して、調整したものである。

【0035】このように調整したALT用液状濃縮生化学試薬（第1反応試薬および第2反応試薬）を用いて、ASTを測定する方法と同様に、自動分析装置を使用したUV-Rate法でALTを測定する。

【0036】具体的には、化2に示すように、血清中のALTが、L-アラニンおよび α -ケトグルタル酸を基質として、ピルビン酸とL-グルタミン酸を生成する。このピルビン酸はLDHの作用により乳酸に変化し、同時にNADHは NAD^+ に変化する。NADHは340nmに吸収極大をもつため、この吸光度の減少速度を測定してALT活性値を求める。

【0037】

【化2】



ウレートから成り、それぞれ図3に示す容量（従来の液状の生化学試薬に対して4倍の高濃度に濃縮した状態）で混合して、調整したものである。

【0040】また、第2反応試薬は、トリス、MES（2-（N-モノホリノ）エタンスルホン酸）、アジ化ナトリウム、塩酸、ピルビン酸リチウム、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレートから成り、それぞれ図3に示す容量（従来の液状の生化学試薬に対して2倍の

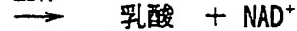
高濃度に濃縮した状態)で混合して、調整したものである。

【0041】このように調整したLDH用液状濃縮生化学試薬(第1反応試薬および第2反応試薬)を用いて、ASTを測定する方法と同様に、自動分析装置を使用したUV-Rate法でLDHを測定する。

【0042】具体的には、化3に示すように、血清中の



LDH

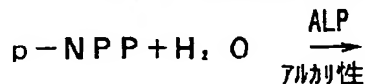


【0044】⑤ALP(アルカリフォスファターゼ)用液状濃縮生化学試薬

血清中のALPを測定する場合の液状濃縮生化学試薬の具体例について、図4のALP用液状濃縮生化学試薬の試薬組成(構成成分)を参照して説明する。

【0045】第1反応試薬は、ジエタノールアミン、アジ化ナトリウム、塩酸、塩化マグネシウムから成り、それぞれ図4に示す容量(従来の液状の生化学試薬に対して4倍の高濃度に濃縮した状態)で混合して、調整したものである。

【0046】また、第2反応試薬は、p-NPP(p-ニトロフェニルフォスフェート)、水酸化ナトリウムから成り、それぞれ図4に示す容量(従来の液状の生化学

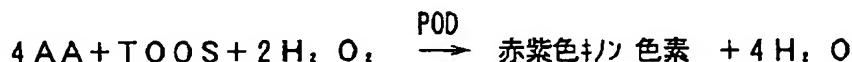
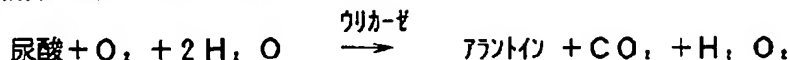


【0050】⑥UA(尿酸)用液状濃縮生化学試薬

血清中および尿中のUAを測定する場合の液状濃縮生化学試薬の具体例について、図5のUA用液状濃縮生化学試薬の試薬組成(構成成分)を参照して説明する。

【0051】第1反応試薬は、リン酸-カリウム、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、N-エチル-N-(2ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-m-トルイジン、アスコルビン酸酸化酵素、ポリオキシエチレンアルキルエーテルから成り、それぞれ図5に示す容量(従来の液状の生化学試薬に対して4倍の高濃度に濃縮した状態)で混合して、調整したものである。

【0052】また、第2反応試薬は、リン酸-カリウム、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、4-アミノアンチピリン、ペルオキシダーゼ、ウリカーゼから成り、それぞれ図5に示す容量(従来の液状の生化学試薬に対して2倍の高濃度に濃縮した状態)で混合して、調



【0056】⑦CRE(クレアチニン)用液状濃縮生化学試薬

血清中および尿中のCREを測定する場合の液状濃縮生化学試薬の具体例について、図6のCRE用液状濃縮生

LDHが、ビルビン酸を基質として乳酸を生成すると同時にNADHをNAD⁺に変化させる。NADHは340nmに吸収極大をもつため、この吸光度の減少速度を測定してLDH活性値を求める。

【0043】

【化3】

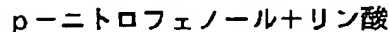
試薬に対して2倍の高濃度に濃縮した状態)で混合して、調整したものである。

【0047】このように調整したALP用液状濃縮生化学試薬(第1反応試薬および第2反応試薬)を用いて、自動分析装置を使用したp-ニトロフェニルリン酸基質法でALPを測定する。

【0048】具体的には、化4に示すように、血清中のALPが、アルカリ性下でp-NPPを基質として、p-ニトロフェノールとリン酸を生成する。このp-ニトロフェノールは405nmに吸収極大をもつため、この吸光度の増加速度を測定してALP活性値を求める。

【0049】

【化4】



整したものである。

【0053】このように調整したUA用液状濃縮生化学試薬(第1反応試薬および第2反応試薬)を用いて、自動分析装置を使用した酵素法でUAを測定する。

【0054】具体的には、化5に示すように、血清中および尿中のUAがウリカーゼの作用でアラントイン、二酸化炭素および過酸化水素に分解される。ここで生成した過酸化水素は、ペルオキシダーゼ(POD)の存在下で、4-アミノアンチピリン(4AA)とN-エチル-N-(2ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-m-トルイジン(TOOS)を酸化的に縮合する結果、赤紫色のキノン色素を生成する。このキノン色素を比色定量し、尿酸濃度を求める。

【0055】

【化5】

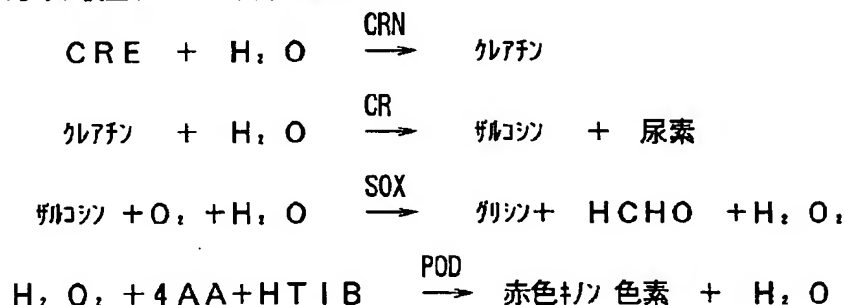
化学試薬の試薬組成(構成成分)を参照して説明する。

【0057】第1反応試薬は、TAPS(N-トリス(ヒドロキシメチル)メチル-3-アミノプロパンスルホン酸)、水酸化ナトリウム、塩化ナトリウム、3-ヒ

ドロキシ-2, 4, 6-トリヨード安息香酸、クレアチナーゼ、ザルコシンオキシダーゼ、カタラーゼ、アスコルビン酸酸化酵素、ポリオキシエチレンアルキルエーテルから成り、それぞれ図6に示す容量（従来の液状の生化学試薬に対して4倍の高濃度に濃縮した状態）で混合して、調整したものである。

【0058】また、第2反応試薬は、TAPS（N-トリリス（ヒドロキシメチル）メチル-3-アミノプロパンスルホン酸）、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、4-アミノアンチピリン、クレアチニナーゼ、ペルオキシダーゼ、ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテルから成り、それぞれ図6に示す容量（従来の液状の生化学試薬に対して2倍の高濃度に濃縮した状態）で混合して、調整したものである。

【0059】このように調整したCRE用液状濃縮生化学試薬



【0062】⑧T-CHO（総コレステロール）用液状濃縮生化学試薬

血清中のT-CHOを測定する場合の液状濃縮生化学試薬の具体例について、図7のT-CHO用液状濃縮生化学試薬の試薬組成（構成成分）を参照して説明する。

【0063】第1反応試薬は、リン酸-カリウム、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、N-エチル-N-（2ヒドロキシ-3-スルフォプロピル）-m-アニジジン、アスコルビン酸酸化酵素、ポリオキシエチレンアルキルエーテルから成り、それぞれ図7に示す容量（従来の液状の生化学試薬に対して4倍の高濃度に濃縮した状態）で混合して、調整したものである。

【0064】また、第2反応試薬は、リン酸-カリウム、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、塩化マグネシウム、4-アミノアンチピリン、コレステロールエステラーゼ、コレステロールオキシダーゼ、ペルオキシダーゼから成り、それぞれ図7に示す容量（従来の液状の生化学試薬に対して2倍の高濃度に濃縮した状態）で混合して、調整したものである。

学試薬（第1反応試薬および第2反応試薬）を用いて、自動分析装置を使用した酵素法でCREを測定する。

【0060】具体的には、化6に示すように、血清中および尿中のCREがクレアチニナーゼ（CRN）の作用でクレアチンになり、ついでクレアチナーゼ（CR）によってザルコシンを生じ、さらにザルコシンオキシダーゼ（SOX）によってグリシンと過酸化水素が生成する。この過酸化水素がペルオキシダーゼ（POD）の存在下で、4-アミノアンチピリン（4AA）と3-ヒドロキシ-2, 4, 6-トリヨード安息香酸（HTIB）を酸化的に縮合し、赤色キノン色素を生成する。このキノン色素を比色定量し、CRE濃度を求める。

【0061】

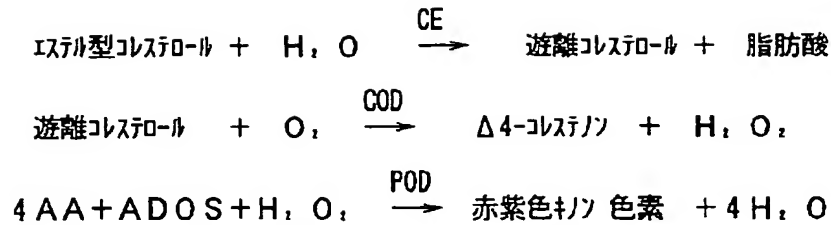
【化6】

【0065】このように調整したT-CHO用液状濃縮生化学試薬（第1反応試薬および第2反応試薬）を用いて、自動分析装置を使用した酵素法でT-CHOを測定する。

【0066】具体的には、化7に示すように、血清中のT-CHOがコレステロールエステラーゼ（CE）の作用により、遊離コレステロールと脂肪酸に分解される。生成された遊離コレステロールと血清中に既存の遊離コレステロールは、コレステロールオキシダーゼ（COD）の作用によりΔ4-コレステノンと過酸化水素を生成する。この過酸化水素がペルオキシダーゼ（POD）の存在下で、4-アミノアンチピリン（4AA）とN-エチル-N-（2ヒドロキシ-3-スルフォプロピル）-m-アニジジン（ADOS）を酸化的に縮合し、赤紫色のキノン色素を生成する。このキノン色素を比色定量し、T-CHO濃度を求める。

【0067】

【化7】

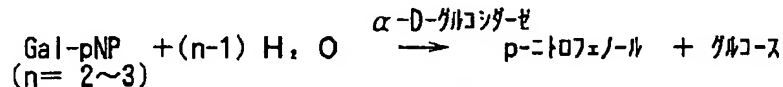
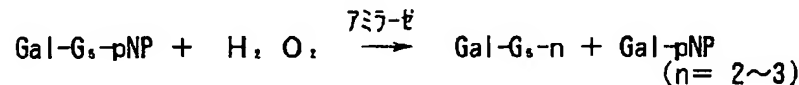


【0068】⑨AMY (アミラーゼ) 用液状濃縮生化学試薬

血清中および尿中のAMYを測定する場合の液状濃縮生化学試薬の具体例について、図8のAMY用液状濃縮生化学試薬の試薬組成(構成成分)を参照して説明する。

【0069】第1反応試薬は、PIPES (ピペラジン-N, N'-ビス(2-エタンスルホン酸))、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、酢酸カルシウム、塩化ナトリウム、 α -グルコシダーゼ、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム、ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテルから成り、それぞれ図8に示す容量(従来の液状の生化学試薬に対して4倍の高濃度に濃縮した状態)で混合して、調整したものである。

【0070】また、第2反応試薬は、PIPES (ピペラジン-N, N'-ビス(2-エタンスルホン酸))、アジ化ナトリウム、水酸化ナトリウム、塩酸、エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム、p-ニトロフェニル- β -ガラクトシル- α -マルトペンタオシドから成り、そ



【0074】

【発明の効果】以上説明したように、本発明の液状濃縮生化学試薬(請求項1~請求項9)は、第1反応試薬と第2反応試薬からなり、検体である血清中または尿中の特定の酵素または物質と反応して所定の測定対象物を生成する生化学試薬において、前記第1反応試薬および第2反応試薬が、それぞれの試薬を構成する構成成分の構成比率を保った濃縮状態に調整された液状試薬であり、かつ、使用直前に希釈水で所定濃度に希釈して使用されるため、保存可能期間が長く、かつ、小容量で大量の検体の測定が可能である。

【0075】また、使用直前に所定濃度に希釈するだけで使用できるため、試薬の調整作業が不要であり、作業性が向上する。また、小容量ボトルで大量の検体の測定が行えるので、自動分析装置の試薬ボトルの交換回数が減り、臨床検査の現場での省力化を図ることができる。

【0076】さらに、液状濃縮生化学試薬を小容量ボトルとすることができるので、従来の液状の生化学試薬と比較して輸送コストの低減を図ることができ、従来の凍

れぞれ図8に示す容量(従来の液状の生化学試薬に対して2倍の高濃度に濃縮した状態)で混合して、調整したものである。

【0071】このように調整したAMY用液状濃縮生化学試薬(第1反応試薬および第2反応試薬)を用いて、自動分析装置を使用した酵素法でAMYを測定する。

【0072】具体的には、図8に示すように、血清中および尿中のAMYは、p-ニトロフェニル- β -ガラクトシル- α -マルトペンタオシド(Gal-G₅-pNP)の α -1, 4結合を加水分解し、Gn-pNPを生成する。さらに α -D-グルコシダーゼを共役させることにより、p-ニトロフェノールを遊離する。このp-ニトロフェノールは405nm付近に吸収極大をもつため、この吸光度の増加速度を測定してAMY活性値を求める。

【0073】

【化8】

結乾燥試薬と比較すると冷蔵スペース等の削減が可能であり、コストの低減を図ることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】AST用液状濃縮生化学試薬の試薬組成(構成成分)を示す図表である。

【図2】ALT用液状濃縮生化学試薬の試薬組成(構成成分)を示す図表である。

【図3】LDH用液状濃縮生化学試薬の試薬組成(構成成分)を示す図表である。

【図4】ALP用液状濃縮生化学試薬の試薬組成(構成成分)を示す図表である。

【図5】UA用液状濃縮生化学試薬の試薬組成(構成成分)を示す図表である。

【図6】CRE用液状濃縮生化学試薬の試薬組成(構成成分)を示す図表である。

【図7】T-CHO用液状濃縮生化学試薬の試薬組成(構成成分)を示す図表である。

【図8】AMY用液状濃縮生化学試薬の試薬組成(構成成分)を示す図表である。

【図1】

AST用液状濃縮生化学試薬 (試薬組成)

第1反応試薬	トリス アジ化ナトリウム 水酸化ナトリウム L-アスパラギン酸 NADH LDH MDH ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート	20 mM 0.12 % 適量 250 mM 0.5 mM 8000 U/l 1400 U/l 0.02 %
第2反応試薬	トリス アジ化ナトリウム 塩酸 L-アスパラギン酸 α -ケトグルタル酸 ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート	720 mM 0.12 % 適量 1560 mM 120 mM 0.02 %

【図2】

ALT用液状濃縮生化学試薬 (試薬組成)

第1反応試薬	トリス アジ化ナトリウム 水酸化ナトリウム L-アラニン NADH LDH ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート	20 mM 0.12 % 適量 850 mM 0.5 mM 8000 U/l 0.02 %
第2反応試薬	トリス 安息香酸ナトリウム 塩酸 L-アラニン α -ケトグルタル酸 ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート	720 mM 0.12 % 適量 2400 mM 120 mM 0.02 %

【図3】

LDH用液状濃縮生化学試薬 (試薬組成)

第1反応試薬	トリス アジ化ナトリウム 塩酸 NADH ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート	40 mM 0.24 % 適量 1.16 mM 0.04 %
第2反応試薬	トリス MES アジ化ナトリウム 塩酸 ピルビン酸リチウム ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート	720 mM 250 mM 0.12 % 適量 16 mM 0.02 %

【図4】

ALP用液状濃縮生化学試薬 (試薬組成)

第1反応試薬	ジエタノールアミン アジ化ナトリウム 水酸化ナトリウム 塩化マグネシウム	5 M 0.24 % 適量 2.52 mM
第2反応試薬	p-ニトロフェニルフォスフェート 水酸化ナトリウム	200 mM 適量

【図5】

UA用液状濃縮生化学試薬 (試薬組成)

第1反応試薬	リン酸-カリウム アジ化ナトリウム 水酸化ナトリウム N-エチル-N-(2-ヒドロキシ-3-メチルプロピル)-m-トールイジン アスコルビン酸ナトリウム ポリオキシエチレンアルキルエーテル	200 mM 0.24 % 適量 2.68 mM 50000 U/l 4.0 %
第2反応試薬	リン酸-カリウム アジ化ナトリウム 水酸化ナトリウム 4-アミノアンチピリン ペルオキシダーゼ ウリカーゼ	100 mM 0.12 % 適量 5 mM 33400 U/l 1560 U/l

【図6】

CRE用液状濃縮生化学試薬 (試薬組成)

第1反応試薬	TAPS 水酸化ナトリウム 塩化ナトリウム 3-ヒドロキシ-2,4,6-トリヨード安息香酸 クレアチナーゼ ザルコシンオキシダーゼ ポリオキシエチレンアルキルエーテル	120 mM 適量 136 mM 10 mM 233200 U/l 20000 U/l 4.0 %
第2反応試薬	TAPS 水酸化ナトリウム アジ化ナトリウム 4-アミノアンチピリン クレアチナーゼ ペルオキシダーゼ ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテル	100 mM 適量 0.2 % 18 mM 100000 U/l 100000 U/l 0.2 %

【図7】

T-CHO用液状培養生化学試験薬 (試験組成)

第1反応試験薬	リン酸一カリウム アジヒナトリウム 水酸化ナトリウム N-エチル-N-(2ヒドロキシ- 3-スルホプロピル)-m-アニシジン アスコルビン酸 ポリオキシエチレンアルキルエーテル	200 mM 0.24 % 適量 3.36 mM 50000 U/l 2.2 %
第2反応試験薬	リン酸一カリウム アジヒナトリウム 水酸化ナトリウム 4-アミノアンチピリン コレステロールエステラーゼ コレステロールオキシダーゼ ペルオキシダーゼ	100 mM 0.12 % 適量 5 mM 5000 U/l 4000 U/l 33400 U/l

【図8】

AMY用液状培養生化学試験薬 (試験組成)

第1反応試験薬	PIPES アジヒナトリウム 水酸化ナトリウム EDTAカルシウム 塩化ナトリウム α -グルコシダーゼ エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム ポリオキシエチレンオクチルフェニルエーテル	300 mM 0.12 mM 適量 2 mM 120 mM 30000 U/l 0.08 mM 0.04 %
第2反応試験薬	PIPES アジヒナトリウム 水酸化ナトリウム エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム p-ニトロフェニル- β -ガラクトシド - α -マルトペンタオシド	20 mM 0.06 mM 適量 0.04 mM 11 mM

フロントページの続き

(51)Int. Cl.⁶

C 1 2 Q 1/34
1/40
1/42
1/44
1/60
1/62

識別記号

庁内整理番号

7823-4B
7823-4B
7823-4B
7823-4B
7823-4B
7823-4B

F I

C 1 2 Q 1/34
1/40
1/42
1/44
1/60
1/62

技術表示箇所

BEST AVAILABLE COPY